

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ О-ДИФЕНОЛОКСИДАЗЫ ЛЬНА НА РАННИХ ЭТАПАХ РАЗВИТИЯ

Малыщик М.П., Лихуща П.С., Таланцева Ю.Н.

Тверской государственный университет

Наиболее важными в растениях являются белки, выполняющие и ферментативные функции. Цель настоящего исследования – выделение, очистка и изучение комплекса физико-химических и каталитических свойств ферментного препарата о-дифенолоксидазы (о-ДФО). О - ДФО растительного происхождения мало изучены. Кроме того, интерес к изучению о-ДФО возник, так как данный фермент входит в состав комплекса ферментов (пероксидазы, полифенолоксидаза и др.), участвующих в процессах лигнификации на молекулярном уровне, и его исследование позволит найти новые подходы к улучшению качества льняных волокон.

На первом этапе выделили и очистили о-ДФО из пятидневных проростков льна по методике, предложенной В.Д. Анисимовым и др. [1] с собственными модификациями, включающей следующие стадии: гомогенизация растительной ткани в фосфатном буфере (pH 5,3) с добавлением аскорбиновой ($1 \cdot 10^{-2}$ М) и бензойной кислот ($1,5 \cdot 10^{-2}$ М), центрифугирование при 3000 об/мин, высаливание 20% сульфатом аммония и повторное центрифугирование при 3000 об/мин. Следующий этап – определение компонентного состава препарата с использованием двух методов: гель-фильтрации через сефадекс G-75 и электрофореза в ПААГе.

Заключительный этап исследования – определение ферментативных характеристик о-ДФО по методу Бояркина, в качестве субстрата использовали раствор бензидина ($5 \cdot 10^{-3}$ М) в ацетатном буфере (pH 5,4), в результате окисления которого образуется соединение синего цвета. Каталитическую активность о-ДФО определяли по времени образования синей окраски окисленного бензидина. Полученные данные были сопоставлены с литературными.

1. В. Д. Анисимов, Т. Б. Кастальева Выделение и некоторые свойства о-дифенолоксидазы картофеля // Биохимия т.43, вып. 9, 1978 с. 1616 – 1621.
2. Лапина Г. П., Малыщик М. П., Честных М. Ю., Добра Е. Выделение и ферментативные свойства о-дифенолоксидазы проростков льна // Сб. тез. XV Российской молодежной научной конференции «Проблемы теоретической и экспериментальной химии», посвященной 85 – летию УрГУ им. А.М. Горького. Екатеринбург, 2005.